
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA *Giardia lamblia*

LABORATORIAL DIAGNOSIS OF *Giardia lamblia*

TATIANE BRITO
PROF. AUGUSTO BASTOS
Ciências Biológicas – IBC, Unigranrio.

Resumo

A *Giardia lamblia* é um protozoário que é responsável pela enteropatia parasitária conhecida como Giardíase e é muito comum em países em que o saneamento básico é precário como no caso do Brasil, porém possui distribuição mundial. O parasito é transmitido pela água e alimentos contaminados com cistos e foi comprovado que viajantes podem contrair Giardíase quando em áreas endêmicas. Os portadores assintomáticos são grupos de grande importância epidemiológica, pois são eles que eliminam na matéria fecal moldada as formas infectantes que são os cistos. Os grupos de risco incluem crianças na faixa etária de 0 a 10 anos, pacientes imunocomprometidos e pessoas que ainda não foram expostas ao parasito. Para o diagnóstico laboratorial de rotina em laboratório de análises clínicas, os métodos mais empregados são os exames de matéria fecal, como por exemplo, o método de Faust. O objetivo deste trabalho é verificar as vantagens e desvantagens do método microscópico quando comparado ao imunoenzimático para o diagnóstico de *Giardia lamblia* em uma única amostra fecal. O exame de fezes constitui a forma clássica de diagnóstico laboratorial da Giardíase e em fezes liquefeitas os métodos de diagnóstico mais utilizados são o método direto, que permite a observação do movimento da forma trofozoítica e a hematoxilina férrica, que evidencia as estruturas citoplasmáticas e nucleares de ambas as formas da *G. lamblia*, enquanto que em material de consistência sólida o método de concentração de Faust e colaboradores é o mais indicado e o método Imunoenzimático qualitativo é indicado em pesquisa científica.

Palavras-Chave: Giardíase; *Giardia lamblia*; Enteropatias parasitárias; Faust; Elisa

Figura : 2 (duas)

Introdução

A *Giardia lamblia* é um protozoário binucleado, flagelado, em sua forma não infecciosa, em forma de pêra, com 9 a 20 µm de diâmetro conhecida como trofozoíta, habitando o intestino delgado. E outra, altamente infecciosa, em forma de cisto elíptico variando de 8 a 12 µm em diâmetro (cística) e com 4 núcleos. A sobrevivência fora do hospedeiro é bastante variável entre as duas formas: a trofozoítica, extremamente lábil, dura somente algumas horas fora do hospedeiro, enquanto a forma cística pode sobreviver por vários dias no meio externo (MORAES, et al, 2000).



Forma : Trofozoíta



Forma: Cística

Fonte: www.nih.gov/jp/.../atlas/images/giardia-trph.jpg

No intestino delgado, os trofozoítos sofrem divisão binária e chegam à luz do intestino, onde ficam livres ou aderidos à mucosa intestinal, por mecanismo de sucção. A formação do cisto ocorre quando o parasita transita o cólon, e neste estágio os cistos são encontrados nas fezes (forma infectante). No ambiente os cistos podem sobreviver meses na água fria, protegidos pela sua espessa camada (membrana externa) (MORAES *et al.*, 2000).

Depois de um período de incubação que varia de 5 a 25 dias, com uma média de 7 a 10 dias, podem aparecer infecções sintomáticas típicas. A transmissão de *Giardia lamblia* de pessoa a pessoa ocorre por transferência dos cistos presentes nas fezes de um indivíduo infectado, através do mecanismo mão-boca. É provável que as pessoas infectadas, porém assintomática (situação muito comum), sejam mais importantes na transmissão do agente do que aquelas pessoas que apresentam diarreia (infecção sintomática). As concentrações de cloro utilizadas para o tratamento da água não matam os cistos da *Giardia*, especialmente se a água for fria; água não filtrada proveniente de córregos e rios expostos à contaminação por fezes dos seres humanos e dos animais constitui uma fonte de infecção comum. A *Giardia* não é transmitida através do sangue. Pode ser transmitida também através da colocação de algo na boca que entrou em contato com fezes contaminadas; da ingestão de água contaminada por *Giardia*; água de piscinas, lagos, rios, fontes, banheiras, reservatórios de água que possam estar contaminado por fezes de animais e/ou seres humanos infectados ou através da ingestão de alimentos mal cozidos contaminado por *Giardia* (MORAES *et al.*, 2000).

Numerosos animais, estudados, foram encontrados hospedando a *Giardia lamblia* e a contaminação da água, por fezes desses animais, é um outro meio de transmissão em humanos, porém não tem grande valor epidemiológico. As manifestações clínicas da giardíase variam desde perda de peso e má absorção até diarreia crônica debilitante. Contudo, alguns pacientes podem ser assintomáticos e expelir cistos nas fezes (DE CARLI, 2001).

Os seres humanos atuam como importante reservatório da doença e, possivelmente, animais selvagens e domésticos podem atuar como reservatórios da giardíase. Os cistos presentes nas fezes dos seres humanos são mais infectantes do que os provenientes dos animais (MARTINI *et al.*, 1985).

O percentual de positividade de um exame de fezes varia entre 50 e 70% e várias amostras geralmente são necessárias para estabelecer um diagnóstico. A Giardíase também pode estar presente na ausência do microorganismo completo, nas fezes, e pode ser confundida com outras doenças tais como a doença de Crohn e a colite ulcerativa. Quando a infecção está presente, mas os parasitos não são detectados, torna-se necessário testar amostras do líquido duodenal para detectar a presença de trofozoítas, entretanto, este método é invasivo e muito caro (DE CARLI, 2001).

O exame de fezes constitui a forma clássica de diagnóstico laboratorial da Giardíase e em fezes liquefeitas os métodos de diagnóstico mais utilizados são o método direto, que permite a observação do movimento da forma trofozoítica e a hematoxilina férrica, que evidencia as estruturas citoplasmáticas e nucleares de ambas as formas da *G. lamblia*, enquanto que em material de consistência sólida o

método de concentração de Faust e colaboradores é o mais indicado. O método imunoenzimático qualitativo (Ensaio em microplaca Alexon ProSpect Giardia) para a detecção do coproantígeno específico para *G. lamblia* foi recentemente avaliado (MACHADO *et al.*, 2001).

Objetivo

Geral:

- Fazer um levantamento bibliográfico sobre os métodos parasitológicos mais utilizados para o diagnóstico da *Giardia lamblia*.

Específico:

- Abordar as vantagens e desvantagens de cada método; Compará-los em relação a sua especificidade.

Metodologia

Para o desenvolvimento deste trabalho de revisão, realizou-se um levantamento bibliográfico, tendo como locais de fonte de consulta as bibliotecas da FIOCRUZ, Universidade Federal do Rio de Janeiro e Universidade do Grande Rio. O trabalho foi realizado através de consultas a revistas nacionais e internacionais da área, sites científicos confiáveis na internet. Na investigação utilizou-se pesquisa de material dos últimos 10 (dez) anos.

Desenvolvimento

As parasitoses intestinais contribuem para a morbidade e mortalidade de pessoas em todo o mundo, principalmente nos países em desenvolvimento. A prevalência

de enteropatias humanas nestes países apresenta frequências mais altas para *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides* e ***Giardia lamblia***, com dano de natureza funcional ou carencial (MARQUES *et al.*, 2005).

A maioria dos parasitos não determina quadro clínico característico, mas a história pode auxiliar o médico na elaboração da impressão diagnóstica. A identificação do parasita em fezes, sangue, tecidos e em outros líquidos do organismo determina, na maioria das vezes, o diagnóstico etiológico. O exame complementar mais utilizado é o parasitológico de fezes (MOTA *et al.*, 2004).

O diagnóstico de giardíase é usualmente confirmado pela presença de cistos ou, menos freqüentemente, trofozoítos em amostras de fezes coradas com tricomo ou hematoxilina férrica. A sensibilidade desse teste pode ser melhorada pela repetição do exame das fezes em uma ou duas amostras adicionais. Os antígenos de *Giardia* podem ser detectados em amostras de fezes, usando-se anticorpos monoclonais ou ensaio de fluorescência direta. Esses testes devem ser considerados se os exames de rotina das fezes não fornecerem o diagnóstico (MOTA *et al.*, 2004).

Para guiar o profissional do laboratório de análises clínicas na procura pelo parasito é importante que o médico descreva no pedido a suspeita diagnóstica e solicite o exame pela técnica adequada para o encontro do parasita. Na colheita das fezes, o paciente deve ser orientado a utilizar um frasco limpo e seco, identificá-lo, anotar o horário da colheita, e o material deve ser transportado imediatamente ao laboratório ou então fixado e conservado em geladeira a 4° C. Os fixadores usados são o álcool polivilínico (para trofozoítos) e o formol a 10% ou MIF (mertiolato, iodo e

formol) para ovos ou cistos. As amostras fecais utilizadas com o MIF devem ser colhidas em 3 a 6 dias alternados, homogeneizados nos dias da coleta, e a quantidade das fezes não deve ultrapassar a metade do volume total (MOTA *et al.*, 2004).

Os métodos parasitológicos por microscopia têm sido os mais comumente usados para o diagnóstico da doença em pesquisa. Esse procedimento requer um técnico experiente para a sua execução e que as fezes contenham cistos intactos. Um teste alternativo é o imunoensaio enzimático (ELISA). Esse método de imunodiagnóstico apresenta sensibilidade superior quando comparado à microscopia. Amostras fecais são, comumente, examinadas usando variadas técnicas e a exatidão dos resultados depende da habilidade do técnico (DE CARLI, 2001).

O percentual de positividade de exame de fezes de indivíduos infectados varia entre 50 e 70% e várias amostras geralmente são necessárias para estabelecer um diagnóstico. A Giardíase também pode estar presente na ausência do microorganismo completo, nas fezes, e pode ser confundida com outras doenças tais como a doença de Crohn e a colite ulcerativa. Quando a infecção está presente, mas os parasitos não são detectados, torna-se necessário testar amostras do líquido duodenal para detectar a presença de trofozoítas, entretanto, este método é invasivo e muito caro (DE CARLI, 2001).

A detecção de antígenos do organismo, por ELISA, fornece um método alternativo para o estabelecimento de um diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade. Utilizando esse método numerosas amostras podem ser testadas rapidamente e objetivamente, e o procedimento é menos trabalhoso quando comparado aos métodos de microscopia (DE CARLI, 2001).

Para VIDAL & CATAPANI (2005) o teste ELISA é recomendável quando se busca uma elevada sensibilidade para a detecção de antígenos específicos de *Giardia lamblia*, como em estudos de prevalência. Para a prática diária, recomenda-se o método microscópico, que tem custo muito menor e pode detectar outros parasitas na mesma amostra. A baixa taxa de positividade do método no exame de uma única amostra pode ser contornada pelo exame de três amostras, como recomendado pela maioria dos autores (MOTA et al., 2004).

O diagnóstico é confirmado pela presença de cistos nas fezes (método de Faust), ou de trofozoítos, quando as fezes são líquidas pelo método de exame direto á fresco com matéria fecal obtida a menos de 20 minutos. Amostra de líquido duodenal através de "Enterotest" (fio de nylon que é ingerido pelo paciente com uma extremidade livre, que é afixada na boca, e a outra com uma cápsula que permite a coleta de conteúdo intestinal) ou intubação nasoduodenal pode visualizar o trofozoíto em microscopia óptica, assim como por biópsia de mucosa de intestino delgado nos casos de síndrome de má-absorção (MOTA et al., 2004).

O método imunoenzimático qualitativo (Ensaio em microplaca Alexon ProSpect *Giardia*) para a detecção do coproantígeno específico para *G. lamblia* (GSA65) foi recentemente avaliado. No Brasil, este teste foi utilizado pela primeira vez em amostras provenientes de pacientes de Belo Horizonte, no Estado de Minas Gerais, mostrando-se sensível e específico para o diagnóstico da giardíase. A instabilidade das formas parasitárias da *G. lamblia* nas fezes, proporciona redução do percentual de detecção deste protozoário pelos métodos microscópicos. O ensaio em microplaca ProSpect *Giardia* obteve

resultado similar em relação ao método de mercúrio e formol (MF), identificando os maiores índices de positividade na amostra estudada. Confirmaram-se os dados previamente observados na literatura, que mostram a sua utilização para diagnóstico desta parasitose (giardíase) em material diarréico ou não, tanto pela sua alta sensibilidade (90,0%) e especificidade (98,3%), tanto pelo tempo de realização (1/3 do tempo da MF), contribuindo na melhoria da qualidade do diagnóstico. O ProSpect *Giardia* Ensaio em Microplaca mostrou-se uma boa alternativa para o diagnóstico da *G. lamblia*, especialmente para aqueles casos em que o exame parasitológico das fezes (EPF) foi repetidamente negativo e o paciente apresenta sintomas compatíveis com a giardíase (ROCHA et al., 1999).

GUIMARÃES & SOGAYA (2002) num estudo em uma creche da rede municipal em São Paulo concluíram que em um total de 147 crianças, 93 (63,3%) apresentaram cistos de *Giardia* nas fezes. Dos 147 casos testados, 93 (63,3%) e 100 (68%) foram positivos para *Giardia* em Imunofluorescência indireta (IFI) e em Elisa, respectivamente. A sensibilidade de IFI foi de 82% e de Elisa, 72%. Contudo, Elisa foi menos específica (39%) do que IFI (70%). A imunofluorescência indireta apresentou maior concordância com o exame de fezes do que Elisa.

SOUZA E BARREIROS (2003) em sua pesquisa, do desempenho da técnica de Imunoseparação Magnética, acoplada à Imunofluorescência (IMS-IFA) que é uma técnica no uso de corpos magnéticos conjugados para específicos anticorpos monoclonais contra marcadores de superfície do protozoário em questão, comparou com técnicas parasitológicas de FAUST et al. e de Lutz na detecção de cistos

de *Giardia lamblia* em fezes humanas. A análise dos resultados mostrou maior sensibilidade da IMS-IFA na detecção de cistos de *G. lamblia* quando comparada aos métodos de FAUST et al. e Lutz. A utilização desta metodologia como procedimento de rotina proporciona o processamento de várias amostras simultaneamente, além de aumentar a recuperação de cistos de *G. lamblia* e reduzir o tempo de estocagem das amostras.

Considerações finais

O sucesso na investigação desta parasitose será diretamente influenciado pela adequação da amostra fecal colhida e pelo número de amostra. É recomendável que se recolha pelo menos 100 gramas de material fecal, por amostra, aumentando o rendimento quando mais de uma amostra for submetida a exame (três habitualmente). Para as amostras frescas devem ser utilizados recipientes, pois tanto água como urina pode matar o parasito. A grande vantagem das fezes frescas é a possibilidade de visualização de trofozoítas móveis, porém como estes deterioram-se muito rapidamente, o exame microscópico deveria ser realizado 30 minutos (fezes líquidas) ou até uma hora (fezes semi-líquidas e pastosas). No caso das fezes formadas (que raramente contém trofozoítas) admite-se que possam ser temporariamente (até 24 horas) preservadas sob refrigeração (www.civesufrj.br/informes/helmintos).

Novas metodologias para o diagnóstico que ofereçam bons parâmetros de sensibilidade, especificidade, baixo custo, rapidez e reprodutibilidade são uma necessidade, principalmente na Região Norte do Brasil, onde as condições sócio-econômicas favorecem os elevados índices

de parasitoses intestinais. A instabilidade das formas parasitárias da *G. lamblia* nas fezes, proporciona redução do percentual de detecção deste protozoário pelos métodos microscópicos. Entretanto, deve-se salientar que de acordo com os resultados obtidos no estudo de MARTINI *et al.*, 1985, o Método de Faust continua sendo uma boa escolha para o diagnóstico da giardíase, principalmente em comunidades com recursos financeiros limitados.

O Método Direto é barato, de rápida execução e permite a visualização das formas trofozoíticas em movimento, porém é desvantajoso já que utiliza amostra não representativa e a presença de material orgânico presente, dificulta a visualização deste protozoário. A coloração pela Hematoxilina Férrica é uma metodologia eficaz para o diagnóstico deste protozoário, apresenta-se satisfatória para a detecção das formas trofozoítas. O custo e o longo tempo de execução representam fatores limitantes ao seu emprego na rotina de diagnóstico de protozoários. Os resultados mostraram-se similares em relação ao do Método de Faust, identificando os maiores índices de positividade na amostra estudada. Confirmamos os dados previamente observados na literatura, que mostram a sua utilização para diagnóstico desta parasitose em material diarréico ou não, tanto pela sua alta sensibilidade (90,0%) e especificidade (98,3%) (BOONE, *et al.*, 1999), tanto pelo tempo de realização (1/3 do tempo da HF), contribuindo na melhoria da qualidade do diagnóstico.

Em relação ao ProSpecT *Giardia* Ensaio em Microplaca, deve-se pensar que a sua maior aplicação dentro de comunidades carentes, como as observadas na Região Norte do Brasil, ainda apresenta limitações devido ao seu alto custo. A utilização deste teste é indicada em estudos

epidemiológicos específicos para a pesquisa de *G. lamblia*, ou então, em casos isolados onde a clínica é sugestiva desta parasitose e as metodologias microscópicas não conseguem resultados conclusivos. A utilização de métodos coproscópicos na rotina de diagnóstico de enteroparasitoses na nossa região ainda se faz necessário, pois além de menor custo estas metodologias são capazes também de detectar outros enteroparasitas (MACHADO *et al.*, 2001).

Bibliografia

ARGOMEDO C, WEITZ JC, SILVA B, LOPEZ L. Estudio comparativo de examen parasitológico de deposiciones e Imunofluorescência directa com anticuerpos monoclonales em el diagnóstico de *Giardia lamblia*. **Parasitologia Al Dia** 17:139-143, 1993.

BOONE JH, WILKINS TD, NASH TE, BRANDON JE, MACIAS EA, JERRIS RC, LYVERLY DM. Techlab and Alexon *Giardia* Enzyme-Linked Immunosorbent assay kits detect cyst wall protein 1. **Journal of Clinical Microbiology**, 1999 37:611-614

DE CARLI, G.A. 2001. **Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas**. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, RJ. 810 p.

DE CARLI, G.A. 2001. **Parasitologia Clínica: Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas**. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, RJ. 810 p.

GUIMARÃES S, SAGAYAR M I. Occurrence of *Giardia lamblia* in children of municipal day-care centers from Botucatu, SP. **Rev Inst**

Med Trop São Paulo 2001; 37: 501-6.

GUIMARAES, S. & SOGAYAR, M.L. Detecção de anticorpos séricos anti-*Giardia lamblia* em crianças de creches. **Rev. Saúde Pública**, fev. 2002, vol.36, no.1, p.63-68. ISSN 0034-8910.

MACHADO, R. C. et al. Giardiasis and helminthiasis in children of both public and private day-care centers and junior and high schools in the city of Mirassol, São Paulo State, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**v.32n.6 Uberaba nov./dez. 1999

MACHADO, R.L.D., FIGUEREDO, M.C., FRADE, A.F., KUDO, M.E., SILVA FILHO, M.G., PÓVOA, M.M. *Giardia lamblia*: Estudo comparativo de quatro metodologias para o diagnóstico laboratorial em uma amostra de fezes de crianças de Belém. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 34 , 2001,(1) : 91-93.

MARQUES , S.M. , BANDEIRA C. , QUADROS R. M. **Prevalência de enteroparasitoses em Concórdia**, Santa Catarina, Brasil. *Parasitología latinoamericana*..2005.Vol. 60 , 78-81 ISSN 0717-7712

MARTINI AS, RODRIGUES VC, TABA MRM, FUJIMORI C. Avaliação de presença de enteroparasitas em crianças de um centro de convivência infantil. **Revista da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto**. 1985. 22:17-20

MORAES RG, GOULART EG, LEITE IC. **Parasitologia e micologia humana**. 4th edição. Cultura Médica, Rio de Janeiro, 2000.

MOTA JAC, Penna FJ, Melo MCB. Parasitoses intestinais. In: Leão E, Corrêa EJ, Viana MB,

Mota JAC, eds. In: **Pediatria Ambulatorial**, 5ª ed. Belo Horizonte: Coopmed; 2004.

MOURA, ROBERTO. **Técnicas de Laboratório**. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, 2005.

NEVES, D.P. et al. *Parasitologia Humana*. 10ª edição. Editora Atheneu, Belo Horizonte, 1998.

REY, L. **Parasitologia**. 2ª edição. Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 1991.

ROCHA MO, MELLO RT, GUIMARÃES TM, TOLEDO VD, MOREIRA MD, COSTA CA. Avaliação do ProSpeT *Giardia* ensaio em microplaca na detecção de coproantígenos de *Giardia lamblia*, em fezes de pacientes de Belo Horizonte, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 41:151-154, 1999.

SOUZA, D. M., BARREIROS, J. T., PAPP, K. M. *et al.* Comparação entre a imuno-separação magnética, acoplada à imunofluorescência, e as técnicas de Faust et al. e de Lutz para o diagnóstico de cistos de *Giardia lamblia* em fezes humanas. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, nov./dez. 2003, vol.45, no.6, p.339-342. ISSN 0036-4665.

VIDAL, A. M. B. & CATAPANI, W. R.. O método imunoenzimático ELISA versus microscopia: vantagens e desvantagens no diagnóstico de giardíase. **São Paulo Med. J.**, nov./dez. 2005, vol.123, no.6, p.282-285. ISSN 1516-3180.

ww.cives.ufrj.br

Acessado em 25/01/2006.

www.nih.go.jp/.../atlas/images/giardia-trph.jpg

Acessado em 25/01/06

Recebido em / *Received*: Agosto de 2006

Aceito em/ *Accepted*: Novembro de 2006